

## Eicosapentaenoic Acid(EPA) 및 Docosahexaenoic Acid(DHA)의 특성, 생리작용 및 그 응용성

김종국<sup>1</sup> · 한명숙<sup>2</sup> · 김사열<sup>2</sup> · 송방호<sup>2\*</sup>  
 경북대학교 <sup>1</sup>미생물학과, <sup>2</sup>생물교육과

지난 사반세기 동안 역학조사, 임상적인 연구 및 동물실험을 통하여 건강과 질병에 있어서 기능성 식품(functional foods)으로서의 불포화지방산에 대한 이해의 정도는 날로 확장되어 온 추세이다. 이 분야에 대한 연구와 지식의 발전은 prostaglandin 물질대사, 막 구조와 기능, 불포화지방산의 유전자 발현에 대한 역할 및 에스키모인들에 대한 역학조사 등에서 비롯되었다[1]. 1970년대 초반에 시작된 덴마크의 Dyerberg 그룹의 역학조사 결과 에스키모인들에게 동맥경화, 뇌경색, 심근경색 등의 질병 발생율이 매우 낮은 것은 그들이 생선과 바다표범을 주식으로 하는 것과 연관이 있으며, 그것은 고도불포화지방산과 깊은 관련이 있음을 알게 되었다[2]. 그후, 일본, 미국 등지에서도 비슷한 역학조사의 결과가 나오므로써 고도불포화지방산에 대하여 다양한 측면에서 관심이 집중되기에 이르렀다.

고도불포화지방산의 중요성이 제기됨과 동시에 그것을 무엇으로부터 어떻게 확보하느냐 하는 것도 중요한 과제가 되었다. 그 중에서도 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahexaenoic acid(DHA)는 특이하게도 화학 합성이 용이하지 못하여 천연물에서 얻어져야 되는데, 지금까지 산업적으로 이들 고도불포화지방산은 주로 고등어, 꽂치, 참치, 전갱이, 정어리, 청어 등과 같은 등이 푸른 생선의 기름에서 추출되어 왔다. 흔히 어유의 지방산은 먹이사슬에 의하여 해양미생물, 즉 조류나 식물성 플랑크톤으로부터 기원하는 것으로 알려져 있다[3]. 그러나 일부 연구자들은 먹이사슬을 통해서 뿐만 아니라 등푸른 어류의 장내에서도 EPA 생산균이 공생하리라고 예측하였다. 그에 따라 각종 어류와 해양동물의 장내에서 세균을 분리 배양하여 EPA 생산능력을 검사한 결과 실제로 많은 종류의 EPA 생산균이 분리되었다[4, 5]. 조류의 경우, 해조류(marine algae)가 고도불포화지방산의 함량이 높고, 담수조류(freshwater algae)는 몇몇 종류만이 EPA 함량이 높은 것으로 관찰되었다(Table 1 참고). EPA의 함량이 높은 조류로 Bacillariophyceae에 속하는 *Phaeodactylum tricornerutum* 및 Rhodophyceae에 속하는 *Porphyridium cruentum* 등이 있으며, EPA와 DHA가 동시에 함량이 높은 조류로는 Chrysophyceae에 속하는 *Isochrysis gal-*

*vana*가 보고되었다[6, 7]. 현재는 생물공학기술을 이용하여 박테리아나 조류에서 EPA와 DHA를 대량 생산하려는 연구가 활발히 진행되고 있다[8, 9].

### EPA 및 DHA의 생합성

고도불포화지방산(highly unsaturated fatty acid, HUFA)이란 불포화지방산 가운데에서 특히 이중결합을 4개 이상 가지는 다가불포화지방산(polyunsaturated fatty acid, PUFA)으로서 arachidonic acid(AA), EPA, DHA 등이 있다(Fig. 1). EPA 또는 DHA는 지방산의 말단 메틸기에서 세 번째와 네 번째 탄소원자 사이에서 첫 번째의 이중결합이 시작되므로 ω-3(또는 n-3) 지방산이라 하며 이는 타의 지방산 ω-6(또는 n-6)와는 구별된다. ω(omega)명명법은 Ralph Holman 박사에 의해 처음 주장

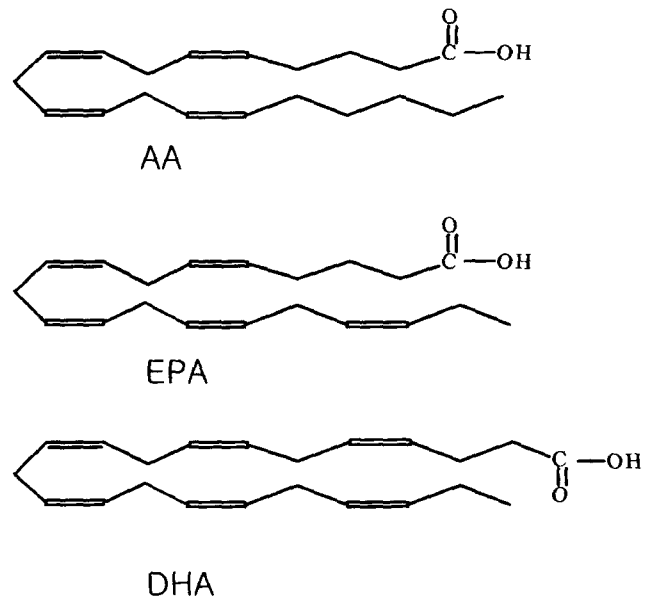


Fig. 1. Structural formulas for saturates, ω-3 and ω-6 fatty acids. Abbreviations: AA, arachidonic acid (all-cis-9, 12, 15-octadecatrienoic acid); EPA, (all-cis-5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoic acid); and DHA, (all-cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid).

**Table 1.** Production of EPA/DHA by fungi and algae

Division/Class	Source Species	% of total fatty acid:	
		EPA	DHA
Fungi			
Oomycota	<i>Thraustochytrium aureum</i>	6	34
Algae			
Rhodophyceae	<i>Batrachospermum</i> sp.	52	-
	<i>Corallina officinails</i>	52	-
	<i>Gloiopeltis furcata</i>	47	-
	<i>Gracilaria. gigas</i>	38	-
	<i>Laurencia pinnatifida</i>	35	-
	<i>Odonthalia dentatya</i>	38	-
	<i>Porphyra yezoensis</i>	52	-
	<i>Porphyridium cruentum</i>	36	-
Dinophyceae	<i>Amphidinium carteri</i>	20	24
	<i>Gonyaulax polyedra</i>	14	23
	<i>Peridinium triquentum</i>	2	19
Bacillariophyceae	<i>Bidulphia anrita</i>	26	-
	<i>Nitzsyhia angularis</i>	21	-
	<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	25	-
Phaeophyceae	<i>Ectocarpus confervoides</i>	-	24
	<i>Hizikia fusiformis</i>	-	12
	<i>Sargassum hornerii</i>	-	17
	<i>Undaria pinnatifida</i>	-	12
Xanthophyceae	<i>Monodus subterneus</i>	31	-
	<i>Tribonema aequale</i>	29	-
Haptophyceae	<i>Hymenomonas carterae</i> Plymouth 156	9	16
	<i>Pavlova lutheri</i>	19	7
Chrysophyceae	<i>Isochrysis galbana</i> Plymouth1	3	11
Eustigmatophyceae	<i>Nannochloropsis oculata</i>	45	-
Chlorophyceae	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	10	-
	<i>Cladophora albida</i>	12	-

Adapted from Araki & Kayama [81].

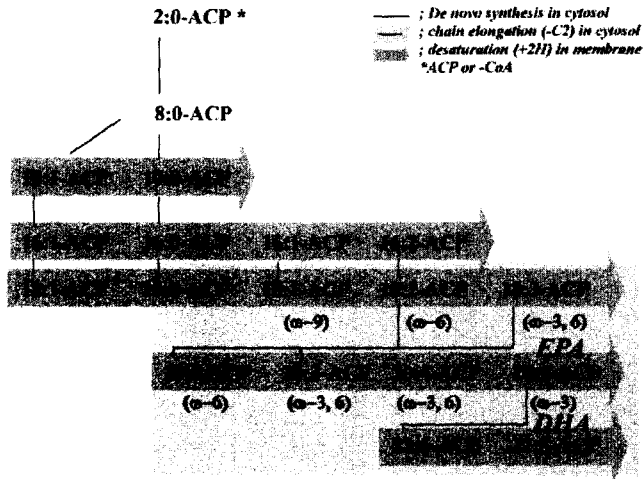
된 후 1985년 “The Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods”에 관한 학회에서 “n-” 보다는 “ $\omega$ -”란 기호로써 이중결합을 표시하는 오메가 명명법을 쓰기로 결정하였으나 일부에서는 아직도 “n-” 명명법이 혼용되고 있다.

생물계의 지방산 생성을 보면 대부분의 세균은 포화된 C<sub>16</sub>, C<sub>18</sub> 지방산과 단일불포화지방산을 생성하나, 동물과 식물은 C<sub>16</sub>과 C<sub>18</sub>의 포화지방산과 C<sub>18</sub>과 C<sub>20</sub>의 불포화지방산을 동시에 생성하는 경우가 많다. 포유동물에서는 linoleic acid(18:2  $\omega$ -6)와  $\alpha$ -linolenic acid(18:3  $\omega$ -3)를 생성하지 못하나 이들이 다른 지방산의 합성에 필요한 전구체이기 때문에 반드시 외부로부터 섭취해야만 하는 필수 지방산으로 간주이다.

고도불포화지방산은 *de novo* 생합성, chain elongation, desaturation 등의 3가지 다른 경로로 합성된다. *de novo* 생합성 체계는 acyl carrier protein(ACP)를 요구하고 acetyl-CoA로부터 유도되는 이탄소 단위들의 연속적인 첨가에 의해 최종산물로 palmitoyl-과 palmitoleoyl-acyl carrier protein을 생성한다. Chain elongation 반응도 역시 ACP를 요구하는데 *de novo* 생

합성을 통하여 생성된 palmitoyl-, palmitoleoyl-, stearoyl-, oleyl-CoA 등에 탄소가 두개씩 첨가되어 사슬길이가 늘어난 acyl-ACP가 생성된다(Fig. 2). Desaturation 반응은 혐기적 및 호기적 경로가 있는데, 혐기적 경로에서는 hydroxy decanoyl thioester dehydrase에 의하여 탈수 반응과 이중결합 이성질화가 일어나는 비 산화경로이다. 호기적 경로에서는 완성된 acyl chain에서 두 개의 수소가 제거되는 반응으로써 O<sub>2</sub>, NADPH, NADH 등이 요구되며 이때 작용하는 desaturase는 그 기원에 따라 다른 기질 특이성을 가진다. 세 가지 다른 종류의 aerobic desaturase로 포유동물에서의 acyl-CoA desaturase[10], 식물에서의 acyl-ACP desaturase[11], 조류[12]와 cyanobacteria[13]에서의 acyl-lipid desaturase 등을 들 수 있다. 이들은 모두 동일하게 acyl-acyl carrier protein을 기질로 반응하며 ferredoxin과 ferredoxin NADP<sup>+</sup> reductase의 공존시에는 그 활성이 증가한다[14].

고도불포화지방산인 EPA와 DHA는 이중결합을 가진 지방산 전구체로부터 호기성 조건하의 desaturation 경로를 통하여

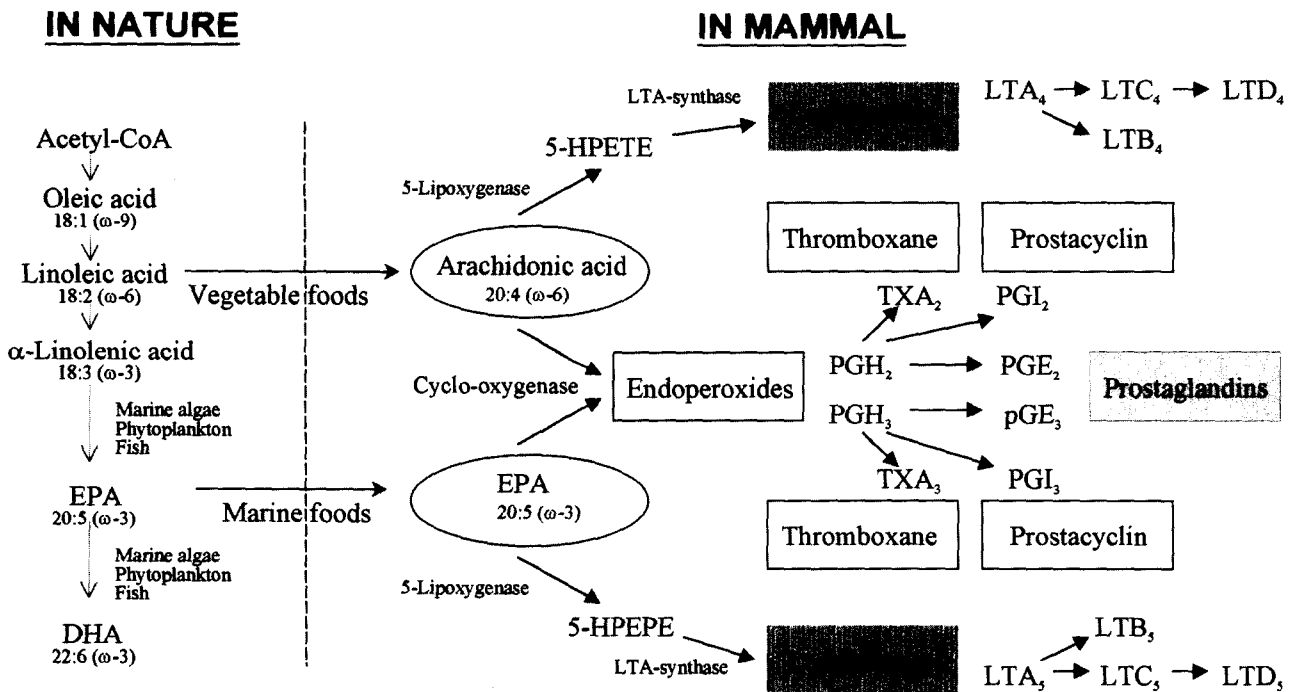


**Fig. 2.** Pathways of polyunsaturated fatty acids synthesis in microorganisms. Figure adapted from Watanabe *et al.* (14). Abbreviations: ACP, acyl carrier protein; CoA, coenzyme A; 16:0, palmitic acid; 18:0, stearic acid; 18:1, oleic acid; 18:2, linoleic acid; 18:3, linolenic acid; 20:4, arachidonic acid; 20:5, eicosapentaenoic acid; and 22:6, docosahexaenoic acid.

생성되는데 [14], 이 과정은 대장균에서 생성되는 ω-7의 monoenoic fatty acid를 생성 경로와는 다르다(Fig. 2, 3). 즉, ω-3 경로에서 oleic acid로부터 desaturation에 의해서 linoleic acid(18:2 ω-6)를 거쳐 α-linolenic acid(18:3 ω-3)로 전환되는데 이중결합의 위치는 oleic acid의 12, 13 위치와 15, 16 위치에

서 생긴다. Chain elongation과 2회의 desaturation이 계속 진행되면서 all-cis-5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoic acid(EPA)를 생성한다. 이러한 경로로 지방산이 합성되는 것은 적조류인 *Porphyridium yezaensis narawaensis*에서 주로 나타난다[15]. 또한 *Mortierella alpha*[16], *Chaetoceras gracilis*, *Chlorella stigmatophora*, *Nannochloopsis salina*, *Chlorella sp.* 및 *Cryptocodinium cohnii* 등에서도 이와 동일한 경로로 지방산이 합성된다[17, 18]. DHA는 EPA로부터 chain elongation 및 desaturation에 의해서 생성되는 것으로 추정된다. 또한, ω-6 경로는 AA까지의 생산 경로로써 역시 두 가지 반응으로 일어나지만 부가적인 이중결합은 분자의 carboxy 말단 쪽에서 도입된다. AA는 두가지 다른 경로에 의해 합성된다. Desaturation에 의하여 linoleic acid로부터 γ-linolenic acid(18:3 ω-6)가 생성된 후 chain elongation과 desaturation에 의해 AA(20:4 ω-6)를 생성하는 경로와, carboxy 말단의 desaturation 결과 얻어진 linoleic acid가 elongation을 통하여 11,14-eicosadienoic acid를 생성한 후, ω-6경로를 경유하여 AA가 합성되는[19, 20] 경우를 들 수 있다. 전자는 Cryptomonad인 *Orchromonas danica*, 적조류인 *Prophyridium cruentum*[19]에서 주로 일어나며, 후자는 Euglenoids인 *Euglena gracilis*와 *Asteria longa*에서 주로 일어나는 반응이다.

EPA나 ω-3 지방산들의 대사는 순환계에서 여러 가지 prostaglandin(PG), thromboxanes(TX), leucotrienes(LT) 등의 eicosanoid



**Fig. 3.** Metabolic pathways of omega-3 and omega-6 fatty acids and oxidative metabolism of arachidonic acid and EPA in mammal. Abbreviations: EPA, eicosapentaenoic acid; DHA, docosahexaenoic acid; 5-HPETE, 5-hydroperoxyeicosatetraenoic acid; and 5-HPEPE, 5-hydroxyeicosapentaenoic acid. Figure adapted from Simpoulos [1] and Bajpai and Bajpai [7].

로 전환되어 대부분의 질환에 대한 치료와 예방효과가 있다.

AA 유래의 혈소판 응집제인 thromboxane  $A_2$ (TXA<sub>2</sub>)의 합성은 EPA에 의하여 저해되나, 한편 약한 응집제인 thromboxane  $A_3$ (TXA<sub>3</sub>)는 EPA가 전구체가 되어 합성이 촉진되기도 한다(Fig. 3). 또 prostaglandin  $I_3$ (PGI<sub>3</sub>)로 전환되는 prostaglandin<sub>3</sub>(PG<sub>3</sub>)는 강력한 항응집제로서 혈관벽에서 EPA로부터 생합성된다[21]. AA로부터 5개 또는 6개 원자로 되어 있는 고리상 구조의 TX와 PG는 "cyclic" 경로로, 직선 구조인 LT는 "linear" 경로로 합성되는데, 전자는 aspirin(acetylsalicylate), ibuprofen등에 의하여 저해되고, 후자는 이들에 의하여 저해되지 않는다. 이와같이  $\omega$ -3 지방산에 의해 유도합성되는 여러 가지 호르몬성 eicosanoid는 혈액점도를 낮추고 막 유동성과 변형성을 증가시키는 생리활성이 있다.

### DHA 및 EPA의 생리기능 및 임상효과

1970년대에 에스키모인을 대상으로 한 역학조사가 시발이 되어 깊은 관심을 끌어 온 고도불포화지방산중 EPA가 1990년에 일본에서 의약품으로 개발되기에 이르렀다. 정어리의 어유로부터 순도를 90% 까지 높인 EPA ethylester는 폐색성 동맥경화증에 대한 효과로 인하여 시판되었고, 4년후 동맥경화 예방개선제로서 승인을 받았으며 임상의들로 부터도 부작용이 적으면서 사용하기 쉬운 의약품으로 평가되어 그 시장은 날로 확대되어 오고있다.

어유에 함유된 또 하나의 중요한 고도불포화지방산은 DHA인데, 이는 사람 뇌의 전두엽에 있는 회백질에 존재하는 인지질 즉, phosphatidyl ethanolamine(PE) 및 phosphatidyl serine(PS)과 같이 혼합되어 DHA가 20-25% 정도 함유되어 있

었다. 이 인지질에는 EPA가 존재하지 않았으며, 망막에도 동일한 지방조성으로 구성되어 있으므로, DHA는 뇌 및 망막과 관련된 고유한 생리활성을 갖고 있으며, 이를 주목하는 것은 당연하다고 볼 수 있다[22].

그러한 점에서 1970년대 이래 불포화지방산의 기능성에 관해 다양한 측면에서 연구가 진행되어 온 것은 필연적인 결과이다. 사실 불포화지방산의 생물학적 및 기능적 효과는 관상 심장질환, 고혈압, 비인슐린성 당뇨병, 감염성 및 자동면역 질환, 그리고 아마도 암 등에서 근원적으로 이로운 물질대사의 인자로서 적지않은 영향이 나타나고 있다[23, 24, 25, 26].

Fig. 3에 표시한 바와 같이, 불포화지방산인 EPA와 AA는 포유동물의 체내에서 일반적으로 PG, prostacyclin 등이 포함된 prostanoid와 LT가 포함된 eicosanoid로 대사된다. EPA에서 유래한 것은 3-시리즈의 prostanoid, 5-시리즈의 leukotriene 인 반면에, AA에서 유래한 것은 2-시리즈의 prostanoid와 4-시리즈의 leukotriene으로 알려져 있다.

고도불포화지방산이 많이 함유된 음식으로부터 EPA를 섭취하면 실질적으로 모든 세포에 있는 막 인지질(phospholipid)의 AA를 대체하게 된다. 그래서, 생선, 생선기름 혹은 해조류 등으로부터 EPA와 DHA를 섭취하면 항혈전성, 항주화성, 항혈관수축성 및 항염증성 등을 나타내는 leukotriene과 prostanoid 생성에 의하여 특정한 생리상태로 된다[27, 28].  $\omega$ -3 지방산이 eicosanoid만을 통하여 여러 가지 만성질환에 영향을 미칠 수 있다는 사실은 긍정적인 것으로 받아들여지고 있다.

### 혈관계 질환에 대한 효능

고도불포화지방산은 지질을 감소시키는 효능(hypolipidemic

**Table 2.** Effects of  $\omega$ -3 fatty acids on factors involved in the pathophysiology of atherosclerosis and inflammation

Factor	Function	Effect of $\omega$ -3 fatty acid:	
		increase	decrease
Arachidonic acid	Eicosanoid precursor; aggregates platelets; stimulates white blood cells		✓
Thromboxane $A_2$	Platelet aggregation; vasoconstriction; increase of intracellular $Ca^{++}$		✓
Prostacyclin (PGI <sub>2/3</sub> )	Prevents platelet aggregation; vasodilation; increase cAMP	✓	
Leukotriene (LTB <sub>4</sub> )	Neutrophil chemoattraction; vasodilation; increase of intracellular $Ca^{++}$		✓
Platelet activating factor (PAF)	Activates platelets white blood cells		✓
Oxygen free radicals	Cellular damage; enhance LDL uptake via scavenger pathway; stimulate arachidonic acid metabolism		✓
Lipid hydroperoxides	Stimulate eicosanoid formation		✓
Interleukin 1 and tumor necrosis factor	Stimulate neutrophil O <sub>2</sub> free radical formation; stimulate lymphocyte proliferation; stimulate PAF; express intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells; inhibit plasminogen activator-thus procoagulants		✓
Endothelial-derived relaxation factor (EDRF)	Reduces arterial vasoconstrictor response	✓	
VLDL	Related to LDL and HDL level		✓
HDL	Decreases the risk for coronary heart disease	✓	

Adapted from Simopoulos [1].

effect)이 있다. 실제로 생선 혹은 생선기름 속에 함유된 EPA와 DHA를 섭취하면 vascular low density protein(VLDL)의 생성이 감소되어 세포내 triglyceride의 수준을 저하시킨다고 알려져 있다(Table 2) [7, 29]. 매일 20 g에 해당하는 다량의  $\omega$ -3 지방산을 섭취하면 high density lipoprotein(HDL)은 줄지 않으나 혈청의 콜레스테롤 양은 저하시킬 수 있다고 한다. 이와 상반되게  $\omega$ -6 지방산은 HDL 콜레스테롤을 지속적으로 감소시켜 관상심장질환에 걸리지 않도록 해주는 효과가 있다.

Table 2에 표시하였듯이, 생선기름의 항혈전적 효과(antithrombotic effect)는 혈소판 응고감소[30], TXA<sub>2</sub> 저하[31] 및 PGI<sub>2</sub>와 PGI<sub>3</sub> 생성 증가[31], 전체 혈액의 점성저하[32] 등에 의하여 출혈시간을 증가시켜 주기 때문에 해석되었다[30, 33]. 만약 우리가  $\omega$ -6 지방산이 다량 함유된 음식을 취하게 되면, Fig. 3에 표시된 경로대로, 체내에 AA로부터의 eicosanoid 대사 산물, 특히 PG, TX, LT, hydroxy fatty acid 및 lipoxin 등이 대량으로 합성되며, EPA와 같은  $\omega$ -3 지방산으로부터 합성되는 eicosanoid가 상대적으로 적게 된다. AA로부터 합성되는 eicosanoid는 극히 적은 양만으로도 생물학적인 활성이 나타난다. 만약 다량이 생성되면 혈전과 피부에 atheroma가 형성되고, 민감한 사람에게는 알레르기성 및 염증성 질병이 유발되며, 세포의 증식에도 기여하게 된다[29]. 그래서 많은 양의  $\omega$ -6 지방산이 섭취될 시에는 혈액 점성, 혈관경련 및 혈관수축현상 등이 증가되고 출혈시간이 감소되는 prothrombus 및 pro-aggregation의 증세가 나타나는 것이다. EPA와 DHA는 혈압강화 효과(hypotensive effect)가 있어서 고혈압 환자의 혈압을 낮추어 준다. 아마도 그것은 내피세포층 유래 완화인자(endothelial-derived relaxing factor: EDRF)의 생성물인 PGE<sub>2</sub>를 감소시키고[34] PGI<sub>2</sub>를 증가시키기 때문이다[35]. 실제적으로 다량의 생선기름으로 영양을 보충하면 최고혈압 6 mmHg, 최저혈압 3 mmHg 정도를 감소시키는 것으로 보고되었다[36]. 이 경우에도, 평상식에 매주 3번 정도 생선을 먹은 실험대상자의 평균 혈압은 그다지 변화하지 않았고, 습관적으로 훨씬 많은 양의 생선을 섭취한 대상자에 있어서는 혈압이 기준선 이하로 내려 갔다. 이와 같이 일차적인 예방의 관점에서 일상적으로 생선유를 섭취하는 것은 매우 중요한 것이다.

$\omega$ -3 지방산을 섭취하면 혈관의 재협착(restenosis)을 방지한다고 알려져 있다. 재협착은 주로 혈소판 응고, 평활근 세포의 증식 및 관상 혈관경련 등에 의하여 야기된다. 비록 혈관성형술의 성공률은 높지만, 흔히 시술후 약 6개월이 지나면 확장된 병변의 25-40%에서 재협착이 일어난다. 이 경우 수술 전후에  $\omega$ -3 지방산을 다량 섭취시 재협착 예방의 효과가 인정되었고 [37, 38], 수술 3주전에 EPA와 DHA 복용시에도 재협착이 감소되었다[39].

동물 실험에서 생선기름의 섭취는 부정맥(arrhythmia) 질환의 발생을 막거나 감소시키기도 한다[40]. 보통 부정맥은 인간

의 급격한 사망과 관련이 있다고 알려져 있는데, 생선 혹은 생선유가 들연사를 감소시킴이 확인되었다[41]. 신생쥐의 근세포 배양액에 EPA와 DHA를 15  $\mu$ M 농도로 첨가하면 세포속에서 EPA는 0.2%에서 7.6%로, DHA는 1.2%에서 6.5%로 각각 그 농도가 확실히 증가하였다. 부정맥형성제인 isoproterenol이나 고농도의 칼슘을 배양세포에 처리하면, EPA와 DHA의 처리에 의한 항부정맥 효과가 상쇄된다는 보고도 있었으나[42], 이때에도 unesterified 형태의  $\omega$ -3 지방산만은 심근세포를 부정맥 유도로부터 방어할 수 있음이 보고되었다.

### 항염증 효과

EPA와 DHA는 AA와 경쟁적으로 작용하여 cyclo-oxygenase 효소에 의한 LTB<sub>4</sub>의 생성을 감소시킨다(Fig. 3). LTB<sub>4</sub>는 염증, 주화성, 관절염(arthritis), 건선(psoriasis), 궤양성 대장염(ulcerative colitis) 등을 유발하는 경향이 있는데 이런 환자에게 생선유를 투여하면 대부분 그 심각성이 감소된다. 류마치스성 관절염 환자에서 EPA와 DHA는 LTB<sub>4</sub>와 interleukin-1의 생성을 감소시키고, LTB<sub>4</sub>와 interleukin-2를 증가시킨다고 한다[43, 44].  $\omega$ -3 지방산을 투여한 환자들에게서 임상적으로 확실히 개선의 효과가 있었는데, 그들의 관절에서 통증과 부종이 줄어들고 문제가 생긴 관절의 수가 감소하였다. 변화된 AA 물질대사가 건선치료 효과도 있어 건선환자의 환부에서 AA와 lipoxigenase 산물인 LTB<sub>4</sub>와 12-HETE가 비정상적으로 높았다. 그런 환자들에게 EPA와 DHA를 투여하면 건선 병변에서 LTB<sub>4</sub>를 감소시키며, 혈청, 과립상백혈구 및 표피에서 EPA와 AA의 함량이 증가하였다. 표피 EPA의 함량과 건선 병변의 홍반이나 가려움의 감소 사이에는 직접적인 관계가 있어 건선 환자의 약 60%가 이러한 반응을 보였다[45]. 궤양성 대장염 환자도 AA의 산물인 LTB<sub>4</sub>와 PGE<sub>2</sub>가 증가한다. 궤양성 대장염에서 LTB<sub>4</sub>가 혈류로부터 점막에 호중구백혈구를 밀집시켜 염증의 중요한 매개체로 작용하며, LTB<sub>4</sub>가 더 많이 증가하면 병세가 악화되는 것으로 해석된다. 이때  $\omega$ -3 지방산은 LTB<sub>4</sub>의 생산을 감소시키기 때문에, 4개월 동안 생선기름 투여시 궤양성 대장염 환자의 치유효과가 있었다[46].

### 유전자 발현과 암에 대한 효능

EPA를 섭취하면 유전자 발현에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 실제적으로, 청어유는 mRNA의 양을 감소시킴으로써 지방산 생성효소(fatty acid synthase)의 합성량을 감소시킨다[47]. 실험용 쥐의 종양조직에서 옥수수유나 버터지질에 비하여 EPA나 DHA가 함유된 생선기름으로 키웠을 때 c-myc나 ras와 같은 종양유전자의 mRNA나 그 발현 단백질의 양이 감소되었다[48].

수많은 동물실험을 통하여 많은 양의 지질, 특히  $\omega$ -6 지방산을 음식물로 공급할 시, 유방암, 전립선암 및 결장암 등의 발병율이 높아진다고 한다[49, 50]. 반면에 EPA와 DHA와 같

**Table 3.** Total lipid and phospholipid fatty acid levels (mole %) in control and tumor brain tissue samples<sup>a</sup>

Fatty acid	total lipid <sup>b</sup> (%)		Total phospholipid <sup>b</sup> (%)	
	Control (n=3)	Tumor (n=13)	Control (n=3)	Tumor (n=13)
Linoleic acid ( $\omega$ -6)	0.9 $\pm$ 0.0	4.3 $\pm$ 2.3	0.8 $\pm$ 0.0	3.4 $\pm$ 2.1
Arachidonic acid ( $\omega$ -6)	9.8 $\pm$ 1.5	9.0 $\pm$ 3.2	9.5 $\pm$ 1.3	10.8 $\pm$ 2.3
EPA ( $\omega$ -3)	0.1 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.3	ND <sup>c</sup>	0.1 $\pm$ 0.1
DHA ( $\omega$ -3)	9.2 $\pm$ 1.0	4.8 $\pm$ 2.9	9.6 $\pm$ 0.8	4.6 $\pm$ 2.1

<sup>a</sup>Each value is the mean  $\pm$  SD.

<sup>b</sup>The values do not add up to 100% because only the most prevalent and relating fatty acids are listed.

<sup>c</sup>ND=not detectable.

Table adapted from Martin *et al.* [52].

은  $\omega$ -3 지방산을 다량으로 섭취시키면, 여러 가지 유형의 악성종양이 억제되는 효능이 있었다[51]. 그것은 Fig. 3에서 볼 수 있듯이, EPA와 DHA는 cyclo-oxygenase와 lipoxygenase 대사경로의 저해시 생성된 eicosanoid가 면역기능항진, 종양유전자 발현억제, 성장조절인자에 의한 암세포의 유도과 확산 등의 기능을 나타내었기 때문에 생각되었다[48].

신경교종(glioma) 환자의 경우, 뇌세포의 DHA 함량이 정상인의 그것에 비하여 현저히 감소되었다는 것이다(Table 3) [52]. 암환자와 정상인에서, AA나 EPA는 별로 차이가 없었으나, linoleic acid는 종양환자의 뇌세포에서 훨씬 많은 양이 검출되었다.  $\omega$ -6 지방산함량이 높은 신경교종 환자는, 신경세포를 죽이는 free radical 발생으로 lipid peroxidation 대사경로를 차단하는 항암치료에 둔감해져 있으므로,  $\omega$ -3 지방산을 음식물로 섭취 보충시키면, 그 항암치료가 상승됨을 알 수 있었다[52].

그 외에도 고도불포화지방산과 관련하여 몇 가지 흥미로운 발견이 이루어졌다. 실제적으로, 생선류를 매일 섭취하는 사람과 매일 섭취하지 않는 사람을 비교할 시, 후자에서 남자가 35%, 여자가 25% 정도의 높은 사망률을 나타내었다. 또한 심장병, 간경변, 위암, 췌장암, 자궁경부암, 담석증, 알츠하이머 등 거의 대부분의 현대적인 성인병에 있어서는 생선섭취에 의하여 예방 또는 발병률 저하가 가능한 것으로 보고되고 있다[53].

### EPA 및 DHA 생성균주의 배양 및 그 생성조건

현재 대부분의 EPA 및 DHA는 생선 기름으로부터 생산하여 이용하고 있으나, 생선 기름으로부터 생산한 EPA 또는 DHA는 그 냄새가 좋지 않으며 또한 안정적인 생산도 기하기 어려우므로 미생물, 즉 조류, 곰팡이, 세균 등으로 부터의 생산이 시도되어 왔다. 미생물에서 효과적으로 EPA와 DHA를 생산하기 위해서는 높은 균체농도를 얻어야 함과 동시에 생체내에 원하는 지방산의 함량을 높여야 한다. 미생물의 경우, 성장 최적조건과 지방산 생산 최적조건이 동일하지 않으며 생육환경조건, 즉 온도, 빛, pH 및 CO<sub>2</sub> 농도 등이 고도불포화지방산

의 생산량에 강하게 영향을 미치고 있음을 알게 되었다.

#### 온도의 영향

고도불포화지방산의 생산량은 저온에서 증가하며, EPA의 함성이 낮은 온도에서 증가하는 현상은 박테리아, 균류, 조류 등에서 일반적으로 관찰되었다. 장내 세균을 분리, 배양한 Yazawa 그룹[54]은 이들 세균이 4°C에서 총 지방산의 40%까지 EPA를 생산한다고 보고하였다. 균류 *Mortierella alpina* [55]는 12-15°C에서, *Phaeodactylum tricornutum*[56]의 경우는 21.5°C에서 배양시 EPA의 함량이 가장 높았다. *Chlorella minutissima*의 배양시 저온에서만 EPA가 축적되었는데, 이는 지방산 합성경로에서 desaturation과 chain elongation에 관여하는 효소활성이 열에 매우 불안정하기 때문이었다[57]. 고도 불포화지방산의 다량 생산을 위한 저온 배양은 균체의 낮은 성장률과 높은 냉각비용 때문에 실질적으로는 유용한 방법이 아니라고 여겨진다. Bajpai & Bajpai[7]는 *Mortierella* 배양시, 배양온도의 변환과 함께 glucose를 공급해 줌으로써 단 시간에 높은 EPA함량을 지닌 균사를 수확하는 방법이 가장 효과적이라고 제안하였다.

#### 빛의 영향

녹조류 *Chlorella minutissima*[57]와 홍조류 *Porphyridium cruentum*[58]은 강한 빛에서 배양시 EPA의 세포내 축적이 촉진되었으나, 규조류 *Cyclotella menaghiniana*와 *Nitzschia closterium*[59], 유글레나류 *Euglena gracilis*[60] 등에서는 낮은 빛 세기가 EPA의 생산성과 세포내 축적능을 높여 주었다. 다수의 광합성 조류에서는 빛이 결여되었을 때,  $\omega$ -6 지방산의 함성은 촉진되었으나,  $\omega$ -3 지방산 즉 EPA는 함성이 저해되었다[61]. 빛의 질, 즉 파장도 몇몇 해양조류의 AA 함성에 영향을 미치게 되어 녹조류 *Enteromorpha intestinalis*에서는 백색광이, *Sargassum salicifolium*에서는 적색광이 더욱 효과적이었다[62].

#### pH의 영향

균류와 조류에서는 EPA가 pH 6.0-7.6에서 가장 많이 생산

되었으며[56, 63], *Thraustochytrium aureum*은 배양초기 pH가 6일경우 DHA 생산량이 최대였다[64]. 황조류인 *Isochrysis galbana*의 경우 배양초기 pH를 8로 하였을 때 균체내의 EPA와 DHA 생산량이 최대이었고 배양초기 pH가 그 이상 증가할수록 그 함량이 감소하였다[65].

**CO<sub>2</sub> 및 aeration의 영향**

CO<sub>2</sub>가 균체 성장 및 고도불포화지방산의 생산에 영향을 미친다[66]. *Isochrysis galbana*의 경우, CO<sub>2</sub> 농도 0.03-1%에서 균체의 성장률이 가장 높았다. CO<sub>2</sub> 농도가 증가할수록 그 성장률이 낮아졌으며, 세포내 총지방산, EPA 및 DHA 등의 함량 또한 감소하였다[65]. 미생물은 고도불포화지방산의 생합성 과정에서 desaturation 반응에서 산소를 필요로 하며, 이는 생산되는 지방산의 불포화도를 결정하는 요인이 된다[61]. *Euglena gracilis*는 혐기적상태에서 배양하면 포화지방산의 형성이 유도된다[67]. *Isochrysis galbana* 배양시 air/CO<sub>2</sub> 혼합기체의 공급이 많으면 최종 균체 농도는 증가하지만 균체 내의 총지방산, EPA와 DHA 등의 함량은 감소하는 경향이 있었다. 이와 같이 높은 공기공급률은 균체성장에 필요한 산소를 충분히 공급하게되어 세포의 농도를 극대화시키지만 높은 산소 분압에 의한 지방의 과산화 촉진반응이 나타나므로 고도불포화지방산을 포함한 총지방산의 함량은 감소하는 것으로 추론하였다[7].

**고도불포화지방산 생합성 유전자의 클로닝**

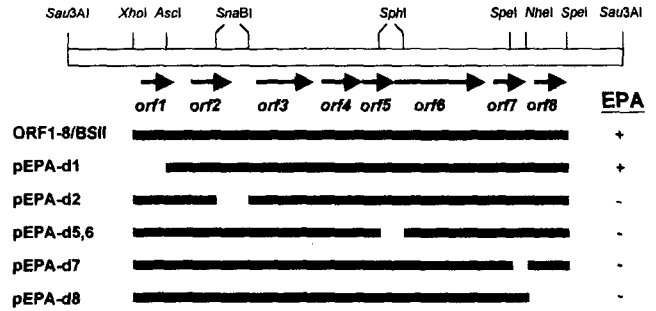
EPA나 DHA를 대량으로 생산하기 위하여, 그 유전자원의 확보는 중요한 과제가 되어 왔다. 물론 조류와 곰팡이 등에서도 꾸준히 시도되어 왔지만, 비교적 다루기 손쉬운 세균에서 관련 유전자들을 분리하기 위하여 우선적으로 심해의 등푸른생선들의 내장에서 서식하는 세균들을 대상으로 하여 EPA나 DHA의 생산능력이 탐색되어 왔다(Table 4). 그러나, 이들의

**Table 4.** Production of EPA/DHA by marine bacteria isolated from sea fish

Strain	Production of <sup>a</sup>		Reference
	EPA	DHA	
<i>Shewanella frigidimarina</i>	+	-	5
<i>Shewanella gelidimarina</i>	+	-	5
<i>Shewanella benthica</i>	+	-	5
<i>Shewanella hanedai</i>	+	-	5
<i>Shewanella putrefaciens</i>	+	-	68
<i>Vibrio</i> sp. (T3615)	+	+	81
Unidentified (SCRC-21406)	+	+	82
Unidentified (SCRC-8132)	+	-	83
Unidentified (SCRC-2738)	+	-	14

<sup>a</sup>+, present; -, absent.

생물산업



**Fig. 4.** EPA productivity of deletion mutants of pEPA. The pEPA contains a 38 kb genome DNA fragment from SCRC-2738 in the 8.8 kb cosmid pWE15. Figure adapted from Yazawa (68).

생산유전자는 복수의 유전자로 구성되어 있으므로 그 크기가 상당히 큰 편이어서 클로닝 실험이 쉽게 성공하지 못하였으나, 1996년에 드디어 일본의 Sagami 화학연구센터의 Yazawa 그룹[68]에 의하여 수행되었다. 그들은 EPA 생산균인 *Shewanella putrefaciens* SCRC-2738의 genomic DNA library를 제작하여 *Escherichia coli* 390에 도입한 후, 생성된 지방산을 Thin Layer Chromatography 및 Gas Chromatography 분석으로 확인하여 최초로 EPA 생합성계 유전자군을 클로닝하게 되었다.

형질전환체로부터 얻어진 플라스미드를 맵핑한 바, 8.8kb의 벡터에 38kb의 염색체 단편이 삽입된 클론이 회수되었다. Fig. 4에 표시하였듯이, 분석 결과 8개의 open reading frame (ORF)으로 구성된 cluster 가운데 ORF1은 EPA 합성에 관여하지 않을 가능성이 높았으며, ORF2, ORF5, ORF6, ORF7, ORF8 등이 결실되었을 때에는 EPA가 검출되지 않았다. 전 ORF 가운데 ORF3는 대장균의 3-oxoacyl-ACP synthase와 26.9%의 아미노산 배열 유사도를 나타내었으며, 대장균의 malonyl CoA-ACP transacylase와도 아미노산 배열 유사도가 29.1% 이었다. ORF4는 *Saccharopolyspora erythraea*의 3-oxoacyl reductase와 30.5%, ORF6는 보리 염류체의 3-oxoacyl-ACP synthase와 29.1% 및 대장균의 3-hydroxy decanoyl-ACP dehydratase와 31.0%의 유사도를 각각 나타내었다. 이들 ORF의 염기배열은 아직 미공개중이나, 이들 유전자의 발현은 cyanobacteria에서 수행되었다[9].

**식물에서 EPA 및 DHA 생산 가능성**

**식물에서의 지방산 생합성**

식물세포의 지방산은 plastid와 세포질에서 합성된다(Fig. 5). Plastid에서의 지방산 생합성은 동물세포와 효모세포에서 일어나는 type I 시스템과는 달리 세균에서와 같이 type II 시스템을 통하여 acetyl-CoA로부터 C16:0-, C18:0- 및 C18:1-ACP를 생합성하여 세포질로 이동시키며, 세포질에서는 desa-





DHA 생합성 관련 유전자들을 분리하여 식물체에서 발현시킬 수 있다면 이들 물질의 대량생산이 가능할 것으로 예상된다. EPA나 DHA의 생합성 경로에 대한 명확한 연구가 없는 실정 이지만, 최근의 연구결과들을 검토해보면 식물에서의  $\omega$ -3 지방산 생산 가능성이 증대됨을 알 수 있다. 즉, Cohen 그룹[79, 80]은 microalgae인 *Porphyridium cruentum*의 EPA생합성기작 연구결과로부터 모든 진핵 및 원핵생물에서의 EPA생산은  $\omega$ -6와  $\omega$ -3 경로를 통하여 전구체 C18:2-phosphatidylcholine(PC)로부터 desaturation과 elongation 반응의 반복에 의해 EPA가 생합성된다고 보고하였다. 따라서 식물에서 EPA 혹은 DHA의 생산을 위해서는 C18:2-PC로부터 EPA나 DHA에 이르는 과정에 필요한 효소들의 특성 구명과 그 유전자들의 분리 및 발현연구는 acyl-CoA의 elongase 및 elongation 관련 효소들, desaturases, EPA/DHA-specific acyltransferases 등에 대한 연구가 선행되어야 할 것이다. 최근 여러 종의 해양미생물과 조류에서 EPA와 DHA의 다량생산을 위한 배양조건, 효소특성 연구 및 관련 유전자들의 분리가 수행되어 식물에서의 DHA 및 EPA의 생산 가능성을 높여주고 있다.

식물에서 DHA나 EPA와 같은  $\omega$ -3 지방산을 생산하기 위해서는 식용유지생산용 작물로 재배되고 있는 대두, 팥, 목화, 평지, 유채, 해바라기, 참깨, 들깨 등이 그 재료가 될 수 있으며 [70], 또한 비유지작물인 벼(*Oryza sativa*)의 경우는 그 부산물인 쌀겨(rice bran)를 사용하여 유지를 얻을 수도 있을 것이다. Rice bran oil은 palmitic acid(C16:0) 16.2%, stearic acid(C18:0) 1.8%, oleic acid(C18:1) 41.4%, linoleic acid(C18:2) 37.5%, linolenic acid(C18:3) 1.6% 등을 함유하고 있어, EPA혹은 DHA 생합성 관련 유전자를 종자특이적으로 도입하면 rice bran oil로부터 EPA 혹은 DHA의 생산이 가능할 것으로 생각된다[77, 78].

EPA 혹은 DHA의 식물에서의 생산은 이론적으로 실현가능 하지만 단순하게 접근할 수 있는 문제가 아닌 것으로 보이며, 다가불포화지방산의 생합성 기작, 형질전환, 육종, 재배에 적절한 작물의 선택 등에 대한 보다 심도있는 기초연구가 선결되어야 할 것이다.

## 참고문헌

1. Simopoulos, A. P. 1994. Fatty acid, p.355-392. In I. Goldberg (ed.), *Functional foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals*. Chapman & Hall, New York, N.Y.
2. Dyerberg, J. and H. O. Bang. 1979. Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet* ii: 433-435.
3. Takeyama, H., K. Iwamoto, S. Hata, H. Takano, and T. Matsunaga. 1996. DHA enrichment of rotifers: A simple two-step culture using the unicellular algae *Chlorella regularis* and *Isochrysis galbana*. *J. Mar. Biotechnol.* 3: 244-247.
4. Watanabe, K., C. Ishikawa, K. Yazawa, K. Kondo, and A. Kawaguchi. 1996. Fatty acid and lipid composition of an eicosapentaenoic acid-producing marine bacterium. *J. Mar. Biotechnol.* 4: 104-112.
5. Bowman, J., S. McCammon, D. Nichols, J. Skerratt, S. M. Rea, P. D. Nichols, and T. A. McMeekin. 1997. *Shewanella gelidimarina* sp. nov. and *Shewanella frigidimarina* sp. nov., Novel antarctic species with the ability to produce eicosapentaenoic acid (20:5 $\omega$ 3) and grow anaerobically by dissimilatory Fe(III) reduction. *Int. J. System. Bacteriol.* 47: 1040-1047.
6. Viso, A. C. and J. C. Marty. 1993. Fatty acids from 28 marine microalge. *Phytochemistry* 34: 1521-1533.
7. Bajpai, P. and P. K. Bajpai. 1993. Eicosapentaenoic acid (EPA) production from microorganisms: a review. *J. Biotech.* 30: 161-183.
8. Lopez Alonso, D., E. Molina Grima, J. A. Sanchez Perez, J. L. Gracia Sanchez, and F. Gracia Camacho. 1992. Fatty acid variation among different isolates of a single strain of *Isochrysis galbana*. *Phytochemistry* 31: 3901-3904.
9. Takeyama, H., D. Takeda, K. Yazawa, A. Yamada, and T. Matsunaga. 1997. Expression of the eicosapentaenoic acid synthesis gene cluster from *Shewanella* sp. in a transgenic marine cyanobacterium, *Synechococcus* sp. *Microbiology* 143: 2725-2731.
10. Leikin, A. I. and R. R. Brenner. 1989. Microsomal D5 desaturation of eicosa-8,11,14-trienoic acid is activated by a cytosolic fraction. *Lipids* 24: 101-104.
11. Jaworski, J. D. 1987. Biosynthesis of monoenoic acid and polyenoic fatty acids. p. 159-174. In P. K. Stumpf (ed.), *The Biochemistry of Plants*. Vol. 9. Academic press, Orlando.
12. Giround, C. and N. Eichenberger. 1989. Lipids of *Chlamydomonas reinhardtii*. Incorporation of [<sup>14</sup>C]palmitate and [<sup>14</sup>C]oleite into different lipids and evidence for lipid-linked desaturation of fatty acids. *Plant Cell Physiol.* 30: 121-128.
13. Sakamoto, T., H. Wada, I. Nishida., M. Ohmori, and N. Murata. 1994.  $\Delta$ 9 acyl lipid desaturases of cyanobacteria. Molecular cloning and substrate specification in terms of fatty acids. *J. Biol. Chem.* 269: 25576-25580.
14. Watanabe, K., K. Yazawa, K. Kondo, and A. Kawaguchi. 1997. Fatty acid synthesis of an eicosapentaenoic acid-producing bacterium: *de novo* synthesis, chain elongation, and desaturation systems. *J. Biochem.* 122: 467-473.
15. Korn, E. D., C. I. Greenblatt, and A. M. Lees. 1989. Synthesis of unsaturated fatty acids in the slime mold *Physarium polycepharium* and the zooflagellates. *J. Lipids Res.* 6: 43-50.
16. Shimizu, S., H. Kawashima, K. Akimoto., Y. Shimen, and H. Yamada. 1988. Fungal mycelia as novel source of eicosapentaenoic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150: 335-341.

17. Ben-Amotz, A., R. Fishler, and A. Schnella. 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids. *Marine Biol.* **95**: 31-36.
18. Henderson, R. J., J. W. Leftley, and J. R. Sargent. 1988. Lipid composition and biosynthesis in aging cultures of marine dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii*. *Phytochemistry* **27**: 555-561.
19. Nichols, B. W. and R. S. Appleby. 1969. The distribution and biosynthesis of arachidonic acid in algae. *Phytochem.* **8**: 1907-1915.
20. Hulanica, D., J. Erwin, and K. J. Blich. 1964. Lipid metabolism of *Euglena gracilis*. *J. Biol. Chem.* **239**: 2778-2787.
21. Fisher, S. and P. C. Weber. 1984. Prostaglandin I<sub>3</sub> is formed *in vivo* in man after dietary eicosapentaenoic acid. *Nature* **307**: 165-168.
22. Yazawa, K. and A. Yamada. 1995. Production of eicosapentaenoic acid from marine bacteria and its genetic engineering. *油化學* **44**: 787-793.
23. Connor, S. L. and W. E. Connor. 1997. Are fish oils beneficial in the prevention and treatment of coronary artery disease? *Am. J. Clin. Nutr.* **66**(suppl): 1020S-1031S.
24. Crawford, M. A., K. Codtelo, K. Ghebremeskel, A. Phylactos, L. Skirvin, and F. Stacey. 1997. Are deficits of arachidonic and docosahexaenoic acids responsible for the neural and vascular complications of preterm babies? *Am. J. Clin. Nutr.* **66**(suppl): 1032S-1041S.
25. Kinsella, J. E., B. Lokesh, and R. A. Stone. 1990. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.* **52**: 1-28.
26. Simopoulos, A. P. 1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.* **54**: 438-463.
27. Lewis, R. A., T. H. Lee, and K. F. Austen. 1986. Effects of omega-3 fatty acids on the generation of products of the 5-lipoxygenase pathway. p.227-238. In A. P. Simopoulos, R. R. Kifer, and R. E. Martin (eds.), *Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Academic Press, Orlando, FL.
28. Weber, P. C., S. Fischer, C. von Schacky, R. Lorenz, and T. Strasser. 1986. The conversion of dietary eicosapentaenoic acid to prostanoids and leukotrienes in man. *Prog. Lipid Res.* **25**: 273-276.
29. Weber, P. C. and A. Leaf. 1991. Cardiovascular effects of  $\omega$ 3 fatty acids. Atherosclerosis risk factor modification by  $\omega$ 3 fatty acids. p.218-232. In A. P. Simopoulos, R. R. Kifer, R. E. Martin, and S. M. Barlow (eds.), *Health Effects of  $\omega$ 3 Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Vol. 66, Karger, Basel.
30. Weber, P. C. 1989. Clinical studies on the effects of n-3 fatty acids on cells and eicosanoids in the cardiovascular system. *J. Intern. Med.* **225**(suppl):61-68.
31. Weber, P. C., S. Fischer, C. von Schacky, R. Lorenz, and T. Strasser. 1986. Dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids and eicosanoid formation in man. p.49-60. In A. P. Simopoulos, R. R. Kifer, and R. E. Martin (eds.), *Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Academic Press, Orlando, FL.
32. Hostmark, A. T., T. Bjerkedal., P. Kierulf., H. Flaten, and K. Ulshagen. 1988. Fish oil and plasma fibrinogen. *Br. Med. J.* **297**: 180-181.
33. Lorenz, R., U. Spengler, S. Fischer, J. Duhm., and P. C. Weber. 1983. Platelet function, thromboxane formation and blood pressure control during supplementation of the western diet with cod liver oil. *Circulation* **67**: 504-511.
34. Vanhoutte, P. M., H. Shimokawa, and C. Boulanger. 1991. Fish oil and the platelet blood vessel wall interaction. p.233-244. In A. P. Simopoulos, R. R. Kifer, and R. E. Martin (eds.), *Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Academic Press, Orlando, FL.
35. Knapp, H. R. and G. A. FitzGerald. 1989. The antihypertensive effects of fish oil. A controlled study of polyunsaturated fatty acid supplements in essential hypertension. *N. Eng. J. Med.* **320**: 1037-1043.
36. Bonaa, K. H., K. S. Bjerve, B. Straume, I. T. Gram, and D. Thelle. 1990. Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on blood pressure in hypertension. A population-based intervention trial from the Tromso Study. *N. Eng. J. Med.* **322**: 795-801.
37. Dehmer, G. J., J. J. Pompa., E. K. van den Berg, E. J. Eichhorn, J. B. Prewitt, W. B. Campbell., L. Jennings, J. T. Willerson, and J. M. Schmitz. 1988. Reduction in the rate of early restenosis after coronary angioplasty by a diet supplemented with n-3 fatty acids. *N. Engl. J. Med.* **319**: 733-740.
38. Grigg, L. E., T. W. H. Kay, P. A. Valentine, R. Larkins, D. J. Flower, E. G. Malonal, K. O'Dea, A. J. Sinclair, J. L. Hopper, and D. Hunt. 1989. Determinants of restenosis and lack of effect of dietary supplementation with eicosapentaenoic acid on the incidence of coronary artery restenosis after angioplasty. *J. Am. Coll. Cardiol.* **13**: 665-672.
39. Bairati, I., L. Roy, and F. Meyer. 1992. Double-blind, randomized, controlled trial of fish oil supplements in prevention of recurrence of stenosis after coronary angioplasty. *Circulation* **85**: 950-956.
40. Charnock, J. S. 1991. Antiarrhythmic effects of fish oils. p. 278-291. In A. P. Simopoulos, R. R. Kifer, R. E. Martin, and S. M. Barlow (eds.), *Health Effects of  $\omega$ 3 Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Vol. 66, Karger, Basel.
41. Burr, M. L., A. M. Fehily, J. F. Gilbert, S. Rogers, R. M. Holliday, P. M. Sweetnam, P. C. Elwood, and N. M. Deadman. 1989. Effect of changes in fat, fish and fibre intakes

- on death and myocardial reinfarction: Diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* **ii**: 757-761.
42. Weylandt, K. H., J. X. Kang, and A. Leaf. 1996. Polyunsaturated fatty acids exert antiarrhythmic actions as free acids rather than in phospholipids. *Lipids* **31**: 977-982.
  43. Sperling, R. I., M. E. Weinblatt, J. L. Robin, J. Ravalese, R. L. Hoover, F. House, J. S. Coblyn, P. A. Fraser., B. W. Spur, D. R. Robinson, R. A. Lewis, and K. F. Austen. 1987. Effects of dietary supplementation with marine fish oil on leukocyte lipid mediator generation and function. *Arth. Rheumat.* **30**: 987-988.
  44. Kremer, J. M., D. A. Lawrence, W. Jubiz, R. DiGiacomo, K. Rynes, L. E. Bartholomew, and M. Sherman. 1990. Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis; clinical and immunological effects. *Arth. Rheumat.* **33**: 810-820.
  45. Hammarstrom, A., M. Hamberg, B. Samuelsson, E. A. Duell, M. Srawiski, and J. J. Voorhees. 1975. Increased concentration of non-esterified arachidonic acid, 12L-hydroxy-5, 8,10,14-eicosatetraenoic acid, prostaglandin E<sub>2</sub>, and prostaglandin F<sub>2a</sub> in epidermis of psoriasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**: 5130-5134.
  46. Stenson, W. F., D. Cort, J. Rodgers, R. Burakoff, K. DeSchryver-Kecsckemeti, T. L. Gramlich., and W. Beeken. 1992. Dietary supplementation with fish oil in ulcerative colitis. *Ann. Intern. Med.* **116**: 609-614.
  47. Clarke, S. D. and M. K. Armstrong. 1988. Suppression of rat liver fatty acid synthetase mRNA level by dietary fish oil. *FASEB J.* **2**: A852.
  48. Fernandes, G. and J. T. Venkatraman. 1991. Modulation of breast cancer growth in nude mice by  $\omega$ 3 lipids. p.488-503. In A. P. Simopoulos, R. R. Kifer, R. E. Martin, and S. M. Barlow (eds.), *Health Effects of  $\omega$ 3 Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Vol. 66, Karger, Basel.
  49. Carroll, K. K., L. M. Braden, J. A. Bell, and R. Kalamegham. 1986. Fat and cancer. *Cancer* **58**(suppl): 1818-1825.
  50. Reddy, B. S. 1986. Diet and colon cancer: Evidence from human and animal models. p.47-66. In B. S. Reddy and L. A. Cohens (eds.), *Diet, Nutrition and Cancer; a Critical Evaluation*. Vol. 1, CRC Press, Boca Raton.
  51. Cave, W. T. 1991.  $\omega$ 3 fatty acid diet effects on tumorigenesis in experimental animals. p.74-86. In A. P. Simopoulos, R. R. Kifer, R. E. Martin, and S. M. Barlow (eds.), *Health Effects of  $\omega$ 3 Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods*. Vol. 66, Karger, Basel.
  52. Martin, D. D., M. E. C. Robbins, A. A. Spector, B.-C. Wen, and D. H. Hussey. 1996. The fatty acid composition of human gliomas differs from that found in nonmalignant brain tissue. *Lipids* **31**: 1283-1288.
  53. Nakahara, T. 1995. Physiological activity of docosahexaenoic acid and its production by microbial culture. *油化學* **44**: 821-827.
  54. Yazawa, K., K. Araki, N. Okazaki, K. Watanabe, C. Ishikawa, A. Inoue, N. Numao, and K. Kondo. 1988. Production of Eicosapentaenoic acid by marine bacteria. *J. Biochem.* **103**:5-7.
  55. Shimizu, S., H. Kawashima, K. Akimoto, Y. Shinmen, and H. Yamada. 1988. Fungal mycelia as a novel source of eicosapentaenoic acid. Activation of enzyme(s) involves in eicosapentaenoic acid production at low temperature. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **150**: 335-341.
  56. Yongmanitchai, W. and O. P. Ward. 1991. Growth of and omega-3 fatty acid production by *Phaeodactylum tricornutum* under different culture conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 419-426.
  57. Seto, A., H. L. Wong, and C. W. Hasseltine. 1984. Culture conditions affect eicosapentaenoic acid content of *Chlorella minutissima*. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **61**: 892-894.
  58. Rezanka, T., J. Doucha, P. Mares and M. Podojil. 1987. Effect of cultivation temperature and light intensity on fatty acid production in the red alga *Porphyridium cruentum*. *J. Basic Microbiol.* **27**: 275-278.
  59. Sicko-Goad, L., M. S. Simmons, D. Lanzinsky, and J. Hall. 1988. Effect of light cycle on diatom fatty acid composition and quantitative morphology. *J. Phycol.* **24**: 1-7.
  60. Constantopoulos, G. and K. Bloch. 1967. Effect of light intensity on the lipid composition of *Euglena gracilis*. *J. Biol. Chem.* **242**: 3538-3542.
  61. Erwin, J. 1973. Comparative biochemistry of fatty acids in microorganisms. In p.41-143. J. Erwin (ed.), *Lipids and Biomembranes of Eucaryotic Microorganisms*. Academic Press, New York.
  62. Radwan, S. S., A. S. Shaaban, and H. M. Gebreel. 1988. Arachidonic acid in lipids of marine algae maintained under different light colors. *Z. Naturforsch. C: Biosci.* **43**: 15-18.
  63. Bajpai, P., P. K. Bajpai, and O. P. Ward. 1992. Optimization of culture conditions for production of eicosapentaenoic acid by *Mortierella elongata* NRRL 5513. *J. Ind. Microbiol.* **9**: 1-18.
  64. Bajpai, P., P. K. Bajpai, and O. P. Ward. 1991. Production of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium aureum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **35**: 706-710.
  65. Oh, Y. K. 1997. Production of EPA and DHA from marine microalga *Isochrysis galbana* Parke. Thesis for the degree of Master of Science, Pusan National University, Pusan.
  66. Tsuzuki, M., E. Ohnuma, N. Sato, T. Takaku, and A. Kawaguchi. 1990. Effect of CO<sub>2</sub> concentration during growth on fatty acid composition in microalgae. *Plant Physiol.* **93**: 851-856.
  67. Yongmanitchai, W. and O. P. Ward. 1989. Omega-3 fatty acids: alternative sources of production. *Process Biochem.* **24**: 117-125.
  68. Yazawa, K. 1996. Production of eicosapentaenoic acid from marine bacteria. *Lipids* **31**(suppl.): S297-S300.

69. Ohlrogge, J. and J. Browse. 1995. Lipid biosynthesis. *Plant Cell* 7:957-970.
70. Murphy, D. J. 1994. Designer oil crops: breeding, processing and biotechnology. VCH, Weinheim, Germany.
71. Murata, N. and Y. Tasaka. 1997. Glycerol-3-phosphate acyltransferase in plants. *Biochim. Biophys. Acta* 1348: 10-16.
72. Huang, A. H. C. 1996. Oleosins and oil bodies in seeds and other organs. *Plant Physiol.* 110: 1055-1061.
73. Napier, J. A., A. K. Stobart, and P. R. Shewry. 1996. The structure and biogenesis of plant oil bodies: the role of the ER membrane and the oleosin class of proteins. *Plant Mol. Biol.* 31: 945-956.
74. James Jr., D. W., E. Lim, J. Keller, I. Plooy, E. Ralston, and H. K. Dooner. 1995. Directed tagging of the Arabidopsis *FATTY ACID ELONGATION1 (FAE1)* gene with the maize transposon activator. *Plant Cell* 7: 309-319.
75. Millar, A. A. and L. Kunst. 1997. Very-long-chain fatty acid biosynthesis is controlled through the expression and specificity of the condensing enzyme. *Plant J.* 12: 121-131.
76. Lassner, M. W., K. Lardizabal, and J. G. Metz. 1996. A jojoba  $\beta$ -ketoacyl-CoA synthase cDNA complements the canola fatty acid elongation mutation in transgenic plants. *Plant Cell* 8: 281-292.
77. Kinney, A. J. 1996. Designer oils for better nutrition. *Nat. Biotechnol.* 14: 946.
78. Zou, J., V. Katavic, E. M. Giblin, D. L. Barton, S. L. MacKenzie, W. A. Keller, X. Hu, and D. C. Taylor. 1997. Modification of seed oil content and acyl composition in the brassicaceae by expression of a yeast *sn-2* acyltransferase gene. *Plant Cell* 9: 909-923.
79. Khozin, I., D. Adlerstein, C. Bigongo, Y. M. Heimer, and Z. Cohen. 1997. Elucidation of the biosynthesis of eicosapentaenoic acid in the microalga *Porphyridium cruentum*. II: Studies with radiolabeled precursors. *Plant Physiol.* 114: 223-230.
80. Araki, S. and M. Kayama. 1996. Distribution of polyunsaturated fatty acids in plants. p.11-43. In M. Kayama (ed.), *AA, EPA, DHA-Highly Unsaturated Fatty Acids*. Gouseisyagouseikaku, Tokyo.
81. Yano, Y., A. Nakayama, H. Saito, and K. Ishihara. 1994. Production of docosahexaenoic acid by marine bacteria isolated from deep sea fish. *Lipids* 7: 527-528.
82. Watanabe, K., C. Ishikawa, I. Ohtsuka, M. Kamata, M. Tomita, K. Yazawa, and H. Muramatsu. 1997. Lipid and fatty acid composition of a novel docosahexaenoic acid-producing marine bacterium. *Lipids* 32: 975-978.
83. Akimoto, M., T. Ishii, K. Yamagaki, K. Ohtaguchi, K. Koide, and K. Yazawa. 1990. Production of eicosapentaenoic acid by bacterium isolated from mackerel intestines. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67: 911-915.